

Behandlung von Knochendefekten mit Stammzellen

Innovatives Therapiekonzept für Patienten mit Hüftkopfnekrose oder Pseudarthrose

Von M. Egermann, A. Suda, A. Moghaddam, P. Kasten

Hüftkopfnekrose

Die aseptische nicht traumatische Osteonekrose des Femurkopfes ist eine schmerzhafte Erkrankung des Hüftgelenks, die Erwachsene im mittleren Alter betrifft und häufig in einer vorzeitigen Arthrose des Gelenkes mit der Notwendigkeit eines endoprothetischen Gelenkersatzes mündet. Hypercortisolismus und Alkoholabusus sind typische Risikofaktoren, die genaue Ätiologie bei häufig multifaktorieller Ursache ist noch weitgehend unbekannt [8]. Eine hohe Inzidenz zeigen auch Organtransplantatempfänger, Patienten mit Lupus erythematoses und Patienten nach Chemotherapie.

Als Standard der klinischen Klassifikation der Hüftkopfnekrose gilt die von der internationalen Association Research Circulation Osseous (ARCO) vorgeschlagene Einteilung der idiopathischen Hüftkopfnekrose in fünf Stadien [3]. Sie berücksichtigt neben Nativröntgen, Computertomografie (CT) und Knochenszinti-

grafie vor allem die Magnetresonanztomografie (MRT), die für die korrekte Klassifikation entscheidende Wertigkeit besitzt.

Die klinische Symptomatik ist unspezifisch mit Schmerzen im betroffenen Hüftgelenk, teilweise ausstrahlend in den Oberschenkel. Die Diagnosestellung erfolgt mittels konventionellem Röntgenbild in zwei Ebenen und MRT [7]. Wegen des häufig (bis zu 70%) bilateralen Auftretens der Erkrankung wird bei Diagnosestellung eine MRT-Darstellung beider Hüftgelenke empfohlen. Subchondrale Frakturen können im MRT nur unzureichend dargestellt werden, weshalb zur Diagnosestellung auf das Röntgenbild nicht verzichtet werden kann.

Das Frühstadium ist zuerst durch eine Ödembildung (ARCO I) charakterisiert, im weiteren Verlauf grenzt sich im subchondralen Bereich die Nekrosezone von dem intakten Knochen ab (ARCO II). Die Anbohrung der Nekrosezone ist im Frühstadium die Therapie der Wahl, da sie hier der konservativen Behandlung überlegen ist [2, 9]. Die Anbohrung führt in Abhängigkeit des Stadiums nur in 29–84% der Patienten zu einer erfolgreichen Linderung der Symptome und ist daher kontrovers diskutiert [6, 10].

Die Spätstadien sind durch eine Deformierung des Hüftkopfes geprägt. Zuerst kann man eine subchondrale Fraktur im Röntgenbild erkennen (ARCO III), später flacht der Hüft-

ZUSAMMENFASSUNG

Trotz unterschiedlicher Ätiologien zeichnen sich aseptische nicht traumatische Osteonekrosen des Femurkopfes sowie nicht heilende Knochenbrüche (Pseudarthrosen) durch eine veränderte Regenerationsfähigkeit des Knochens aus. Körpereigene mesenchymale Stammzellen können Knochendefekte heilen und die Durchblutung des Knochens verbessern. Deshalb werden Patienten mit Hüftkopfne-

se und Pseudarthrose in prospektiven randomisierten Studien mit diesen Zellen behandelt. Ein neuer Ansatz ist es, dem Patienten während einer Narkose Stammzellen zu entnehmen und nach Aufbereitung in hoher Konzentration in der gleichen Operation wieder zu implantieren.

Schlüsselwörter: Hüftkopfnekrose – Pseudarthrose – Knochendefekte – Stammzellen

Eingereicht 15.2.2008 – Revision akzeptiert 14.1.2009

Dr. med. Marcus Egermann, Dr. med. Arnold Suda, Stiftung Orthopädische Universitätsklinik Heidelberg (Direktor: Prof. Dr. med. Volker Ewerbeck), Heidelberg; Dr. med. Arash Moghaddam, BG-Unfallklinik Ludwigshafen (Direktor: Prof. Dr. med. A. Wentzensen), Ludwigshafen; Priv.-Doz. Dr. med. Philip Kasten, Stiftung Orthopädische Universitätsklinik Heidelberg

Die Studie wurde vom Forschungsfond der Orthopädischen Universitätsklinik Heidelberg unterstützt. Die Firma Biosafe S.A. hat die Zentrifuge zur Aufbereitung des Knochenmarks zur Verfügung gestellt.

kopf weiter ab und eine sekundäre Arthrose entsteht (ARCO IV). Für die Spätstadien ist der endoprothetische Gelenkersatz (Hüft-TEP) aufgrund der guten Ergebnisse heutzutage das Therapieverfahren der Wahl [14]. Es ist jedoch anzumerken, dass bei der Hüftkopfnekrose die Ergebnisse der Hüft-TEP bei Patienten gleichen Alters und Gewichts im Vergleich mit anderen Diagnosen schlechter sind [12, 13].

Wegen dieser angeführten Tatsachen und aufgrund des jungen Alters der Patienten ist es wichtig, wenn möglich einer Hüft-TEP-Implantation vorzubeugen oder diese zumindest so lange wie möglich hinauszuschieben. Daher sind weitere Verbesserungen insbesondere in der Therapie des Frühstadiums anzustreben. Veränderungen der mesenchymalen Stammzellen (MSC) u. a. mit einer geringeren osteogenen Differenzierungsfähigkeit sowie geringeren Anzahl wurden bei Osteonekrose beobachtet und könnten eine mögliche Ursache darstellen. Neue Therapieverfahren sollten daher die Möglichkeiten der MSC (siehe unten) für die Regeneration des Hüftkopfes ausnutzen.

Pseudarthrose

Trotz moderner operativer Frakturbehandlung heilen 5–10% der 5,6 Millionen (Daten für USA) jährlich behandelten Frakturen nicht primär aus. Persistiert die verzögerte Knochenbruchheilung, und liegt sechs Monate nach einer Fraktur keine Konsolidation vor, spricht man von einer Pseudarthrose (englisch: non-union).

Die Standardbehandlung der Pseudarthrose bei intaktem Implantat stellt die Spongiosaplastik dar. Dabei wird Knochen aus dem Beckenkamm entnommen und in den nicht heilenden Frakturspalt eingebracht. Die Entnahme von Knochen aus dem Beckenkamm geht mit einer nicht unerheblichen (bis 30%) Komplikationsrate (z. B. Hämatome, Schmerzen, Par-

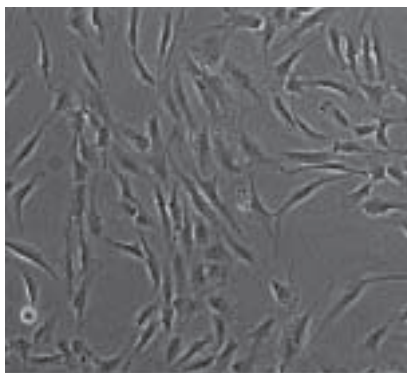


Abb. 1: Lichtmikroskopisches Bild (zehnfache Vergrößerung) eines Zellkulturfläschchens. Man sieht sich vermehrende, menschliche adulte Stammzellen aus Knochenmark, die auf dem Plastik der Zellkulturflasche haften.

ästhesien) einher und die Menge an Spongiosa ist limitiert [1]. Neue Konzepte werden daher entwickelt, um diese Komplikationen zu vermeiden. Experimentelle Studien konnten zeigen, dass künstliche Trägermaterialien einen Knochendefekt überbrücken können, für die Formation von neuem Knochen aber die Anwesenheit von Zellen, z. B. mesenchymale Vorläuferzellen, notwendig ist [11]. Bei Pseudarthrosen mit kleinem Frakturspalt ist für die Behandlung keine Spongiosa oder künstliches Trägermaterial notwendig, die Applikation einer großen Zahl mesenchymaler Stammzellen kann zu einer Heilung führen [5].

Mesenchymale Stammzellen

Multipotente Vorläuferzellen der Bindegewebe werden MSC genannt und sind Gegenstand intensiver Forschungstätigkeiten in den letzten Jahren (Abb. 1). Diese Zellen sind in der Lage, zu Knochenzellen (osteogen), Knorpelzellen (chondrogen), Fettzellen (adipogen) und weiteren Zellen (z. B. myogen) zu differenzieren. Wegen ihres Proliferationsvermögens (Vermehrung) und Differenzierungsverhaltens eignen sich diese Zellen besonders für neue Therapiekonzepte der regenerativen Medizin (engl. „Tissue Engineering“).

MSC können aus dem Knochenmark gewonnen werden und sind dort in der Fraktion der mononukleären Zellen enthalten. Das Knochenmark kann z. B. durch eine Punktion am Beckenkamm gewonnen werden. In den bisherigen meist experimentellen Studien wurde für die Gewinnung von MSC ein Knochenmarkpunktat, z. B. vom Beckenkamm (ca. 5 ml), verwendet, mithilfe des sogenannten Ficoll-Gradienten die Fraktion der mononukleären Zellen von anderen Bestandteilen getrennt und die MSC in der Zellkultur vermehrt. Diese Vermehrung gelingt aufgrund des starken Proliferationsvermögens problemlos, benötigt jedoch mehrere Tage bis Wochen. Für die breite klinische Anwendung eignet sich diese aufwendige Methode nicht, da besondere Laboreinrichtungen notwendig sind, die nur wenigen universitären Einrichtungen zur Verfügung stehen. Weiterhin muss sich der Patient zwei Eingriffen unterziehen (Entnahme der Zellen und Implantation), und es besteht ein gewisses Infektionsrisiko.

Für die klinische Anwendung der MSC wäre eine Entnahme und sofortige, intraoperative Aufbereitung der Zellen ideal. Für die entsprechend hohe Zahl an MSC ist die Entnahme von ca. 250 ml Knochenmark notwendig. Seit Kurzem steht für die Aufbereitung von Knochenmark eine transportable Zentrifuge* zur Verfügung. Diese Zentrifuge kann problemlos in einen Operationsaal gestellt werden und arbeitet mit einem geschlossenen System, um das Infektionsrisiko zu minimieren.

Philip Hernigou, Orthopäde in Paris, Frankreich, behandelt bereits seit mehreren Jahren Patienten mit Hüftkopfnekrose im Frühstadium mit Anbohrung und intraoperativer Injektion von angereichertem Kno-

* Sepax-System; Hersteller: Biosafe SA, Eysins, Schweiz

chenmark [5]. Er verwendet jedoch eine große Zentrifuge aus dem Bereich der Hämatologie. Dabei muss ein erheblicher logistischer Aufwand für den Transport des Knochenmarks aus dem Operationssaal ins hämatologische Labor und zurück bewältigt werden. Dieses Transportproblem kann durch die neue transportable Zentrifuge vermieden werden.

In ersten Studien wurde das Programm der neuen Zentrifuge zur Stammzellgewinnung (ein Volumen-Reduktionsprogramm) getestet und erwies sich bezüglich der Konzentrationsfähigkeit als überlegen gegenüber den traditionellen Programmen zur Stammzellgewinnung mithilfe eines Dichtegradienten (Ficoll). In den klinischen Studien wurden den Patienten im Durchschnitt 297 ($\pm 18,6$) ml Knochenmark entnommen und im Volumenreduktionsprotokoll auf das Zielvolumen von 12–14 ml reduziert.

Die Anzahl der MSC wurde im Labor mittels Colony-Forming-Units-(CFU-)Tests ermittelt. Mit der Zentrifugation konnte die Anzahl von Stammzellen pro ml Knochenmark von 96 auf 1377, d. h. um den Faktor 14 aufkonzentriert werden. Die MSC sind in der Fraktion der nukleären Zellen (NC) enthalten, und die Zellanalysen haben nach Zentrifugation gezeigt, dass $10,7 \text{ MSC}/1 \times 10^6 \text{ NC}$ im Konzentrat enthalten sind. Es standen somit durchschnittlich $29,6 \times 10^3$ Stammzellen für die klinische Anwendung zur Verfügung, wobei die Anzahl an MSCn auch von dem verwendeten und injizierten Zielvolumen abhängt. Hüftkopfnekrosen erfassen regelmäßig 20–40% des Hüftkopfs und haben somit ein Volumen von 10–20 ml. Weiterhin ist das umgebende gesunde Trabekelnetzwerk des spongiösen Knochens im Hüftkopf in der Lage, die langsam injizierten Zellen aufzunehmen.

Die Eigenschaften der mit der neuen Methode gewonnenen Stammzellen



Abb. 2: Nach Entnahme am Beckenkamm wird das Knochenmark steril in ein geschlossenes System überführt. Die Separation der körpereigenen, mesenchymalen Stammzellen in der Fraktion der mononukleären Zellen erfolgt mithilfe der Zentrifugation und dauert ca. 40 Minuten bei zwei Zentrifugationsschritten.



Abb. 3: Die Region des nicht verheilten Knochenbruchs (Pseudarthrose) wird minimalinvasiv entfernt und unter radiologischer Kontrolle werden die Stammzellen injiziert.

waren bezüglich ihrer Differenzierungsfähigkeit in Knochen, Knorpel und Fettgewebe gleichwertig mit den Vergleichsgruppen und auch das Oberflächenmuster (CD-Muster [cluster of differentiation]) blieb identisch, d. h. die Stammzellen behielten auch in der neuen Isolationsmethode ihre gewünschten Eigenschaften. Da-

mit eignen sich diese körpereigenen Zellen besonders z. B. für die Regeneration von Knochengewebe.

Therapiekonzept

Ziel der Heidelberger Arbeitsgruppe in Zusammenarbeit mit der Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik Ludwigshafen ist es, die Stammzellen direkt im Operationssaal aufzubereiten: Die Zellen werden dabei aus dem Knochenmark der Beckenschaufel entnommen und die Stammzellen in einer speziellen Zentrifuge direkt im Operationssaal gewonnen (Abb. 2). So können die Patienten während einer einzigen Narkose mit körpereigenen Stammzellen behandelt werden – auch im Rahmen eines ambulanten Eingriffs.

Die Stammzellbehandlung wird derzeit in zwei von der Ethikkommission Heidelberg genehmigten klinischen Studien an Patienten verwendet.

- **Pseudarthrose:** Bei nicht verheilten Knochenbrüchen (> 6 Monate), sofern der Knochendefekt kleiner als 5 mm ist und eine intakte Osteosynthese vorhanden ist. Der nicht geheilte Bereich wird minimalinvasiv ausgeräumt und die Stammzellsuspension eingebracht (Abb. 3).
- **Hüftkopfnekrose:** Bei Osteonekrosen des Hüftkopfes, wenn noch keine Entrundung des Hüftkopfes eingetreten ist (ARCO II) (Abb. 4). Die nicht mehr durchbluteten Gebiete des Hüftkopfes werden angebohrt (Hüftkopfanbohrung) und prospektiv randomisiert Stammzellen eingespritzt.

Für die Hüftkopfnekrose sieht das Behandlungskonzept folgendermaßen aus: Zu Beginn der Operation werden unter sterilen Bedingungen beide Beckenkämme mehrfach punktiert und ca. 250 ml Knochenmark entnommen. Die korrekte Entnahmetechnik ist entscheidend für die ausreichende Anzahl an MSC im nativen Knochenmark vor der Aufbereitung. Die Stammzellen in der Fraktion der mo-



Abb. 4: Im MRT-Bild direkt postoperativ sieht man den angeschnittenen Bohrkanal, der die typischerweise gelenknahe und kappenförmige Hüftkopfnekrose erreicht, ohne den Knorpel zu durchdringen. Durch diesen Kanal werden in spezieller Technik die Stammzellen injiziert.

nonukleären Zellen werden anschließend mithilfe der Zentrifuge separiert. Während der MSC-Aufbereitung erfolgt gemäß dem Standardverfahren zuerst die Lokalisationskontrolle mit einem K-Draht unter Bildwandlerkontrolle und anschließend die Anbohrung der Nekrosezone bis in den subchondralen Bereich. Bei Patienten in der Behandlungsgruppe wird direkt im Anschluss in den Bereich der Hüftkopfnekrose das konzentrierte Knochenmark (ca. 12 ml) über fünf bis sechs Minuten injiziert. Kleine Proben des nativen und separierten Knochenmarks werden routinemäßig im Labor auf ihre Anzahl an MSC geprüft, um die ausreichende Anzahl an Zellen zur Therapie zu gewährleisten [4].

In die Studien werden zurzeit noch Patienten eingeschlossen, sodass abschließende Resultate noch ausstehen. Die ersten Ergebnisse zeigen jedoch, dass das Nekrosevolumen bei Hüftkopfnekrosen nach Stammzellinjektion im Mittelwert tendenziell kleiner wird und eine Knochenregeneration möglicherweise stattfindet. Weiterhin ist festzustellen, dass bei den bisher behandelten Patienten durch die Stammzellentnahme am Becken-

kamm sowie die Implantation keine Nebenwirkungen aufgetreten sind.

Fazit

Körpereigene Stammzellen haben ein großes Potenzial, in der regenerativen Medizin Heilungsprozesse zu unterstützen. Die bisherige Vermehrung der Zellen in Kultur eignet sich nicht für die breite klinische Anwendung. Neu entwickelte transportable Zentrifugen ermöglichen die Anreicherung von Stammzellen während des chirurgischen Eingriffs. MSC sind in der Lage, in Zellen verschiedener Gewebetypen zu differenzieren und können z. B. Knochen, Knorpel und Fett bilden. Interessanterweise differenzieren die Zellen besonders leicht in die osteogene (knochenbildende) Linie und eignen sich somit besonders für die Regeneration von Knochengewebe.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie demonstrieren die erfolgreiche intraoperative Anreicherung von MSC und die sofortige Verwendung zur Behandlung der Femurkopfnekrose und Pseudarthrose. Die Punktion von autologem Knochenmark und die intraoperative Zellseparation mit dem neuen Zentrifugensystem stellen eine einfache und reproduzierbare Technik dar, die großes Potenzial besitzt, zukünftig in die klinische Routineversorgung integriert zu werden. Die intraoperative Zellseparation benötigt zwar große Mengen Knochenmark für eine suffiziente Anzahl an MSC, ist jedoch im Gegensatz zur In-vitro-Expansion schneller, kostengünstiger und technisch einfacher durchzuführen.

Treatment of bone defects with stem cells. Innovative therapy concept for patients with femoral head necrosis or non-union

Keywords: Femoral head necrosis – Non-union – Bone defects – Stem cells

LITERATUR

1. Arrington, E. D., Smith, W. J., Chambers, H. G., Bucknell, A. L., Davino, N. A.: Complications of iliac crest bone graft harvesting. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 329 (1996), 300–309.

2. Castro, F. P., Jr., Barrack, R. L.: Core decompression and conservative treatment for avascular necrosis of the femoral head: a meta-analysis. *Am. J. Orthop.* 29 (2000), 187–194.
3. Gardeniers, J. W.: Report of the Committee of Staging and Nomenclature. *ARCO News Letter* 5 (1993), 79–82.
4. Hernigou, P., Poignard, A., Beaujean, F., Rouard, H.: Percutaneous autologous bone-marrow grafting for nonunions. Influence of the number and concentration of progenitor cells. *J. Bone Joint Surg. Am.* 87 (2005), 1430–1437.
5. Hernigou, P., Poignard, A., Manicom, O., Mathieu, G., Rouard, H.: The use of percutaneous autologous bone marrow transplantation in nonunion and avascular necrosis of bone. *J. Bone Joint Surg. Br.* 87 (2005), 896–902.
6. Ito, H., Matsuno, T., Kaneda, K.: Prognosis of early stage avascular necrosis of the femoral head. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 358 (1999), 149–157.
7. Kramer, J., Breitenseher, M., Imhof, H., Urban, M., Plenck, H. Jr., Hofmann, S.: Diagnostic imaging in femoral head necrosis. *Orthopade* 29 (2000), 380–388.
8. Mattes, T., Fraitzl, C., Ostertag, O., Reichel, H.: Differential diagnoses of avascular necrosis of the femoral head. Articular groin pain in adults. *Orthopade* 36 (2007), 414, 416–422.
9. Mont, M. A., Carbone, J. J., Fairbank, A. C.: Core decompression versus nonoperative management for osteonecrosis of the hip. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 324 (1996), 169–178.
10. Mont, M. A., Hungerford, M. W.: Therapy of osteonecrosis. Basic principles and decision aids. *Orthopade* 29 (2000), 457–462.
11. Muschler, G. F., Nitto, H., Matsukura, Y., et al.: Spine fusion using cell matrix composites enriched in bone marrow-derived cells. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 407 (2003), 102–118.
12. Radl, R., Hungerford, M., Materna, W., Rehak, P., Windhager, R.: Higher failure rate and stem migration of an uncemented femoral component in patients with femoral head osteonecrosis than in patients with osteoarthritis. *Acta Orthop.* 76 (2005), 49–55.
13. Schmalzried, T. P.: Total resurfacing for osteonecrosis of the hip. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 429 (2004), 151–156.
14. Seyler, T. M., Cui, Q., Mihalko, W. M., Mont, M. A., Saleh, K. J.: Advances in hip arthroplasty in the treatment of osteonecrosis. *Instr. Course Lect.* 56 (2007), 221–233.
15. Narin, S. O., et al.: The effects of exercise and exercise-related changes in blood nitric oxide level on migraine headache. *Clin. Rehabil.* 17 (2003), 624–630.
16. NCSS, S.P.A.S.: *Metanalysis of Means in NCSS Manual.* 2007: Kaysville, Utah, USA.
17. Nordlander, E., et al.: Improvement of exercise capacity in patients with migraine – methodological considerations. *Cephalalgia* 27 (2007), 575–759.

Für die Verfasser:

Dr. med. Marcus Egermann
 Orthopädische Universitätsklinik
 Heidelberg
 Schlierbacher Landstraße 200
 D-69118 Heidelberg
 Tel. 06221 96-6387
 E-Mail: marcus.egermann@
 ok.uni-heidelberg.de